

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1912-1913. — N° 61

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE LYON

SUBSTANCES
COAGULANTES ET ANTICOAGULANTES
CONTENUES DANS LES TISSUS

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 19 Décembre 1912

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre DUBRULLE

Né le 23 Juillet 1888, à Maubeuge (Nord).

Elève de l'École du Service de Santé Militaire.



LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

Décembre 1912



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1912-1913. — N° 61

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE LYON

SUBSTANCES
COAGULANTES ET ANTICOAGULANTES
CONTENUES DANS LES TISSUS

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 19 Décembre 1912

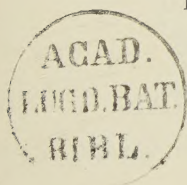
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Pierre DUBRULLE

Né le 23 Juillet 1888, à Maubeuge (Nord).

Elève de l'École du Service de Santé Militaire.



LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

Décembre 1912

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. HUGOUNENQ DOYEN.
J. COURMONT ASSESSEUR

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. CHAUVEAU, AUGAGNEUR, SOULIER, TRIPIER, CAZENEUVE, LÉPINE
PIERRET, BEAUVISAGE.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. TEISSIER
Cliniques chirurgicales	ROQUE
Clinique obstétricale et Accouchements	BARD
Clinique ophtalmologique.	PONCET
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	JABOULAY
Clinique des maladies mentales	FABRE
Clinique des maladies des enfants	ROLLET
Clinique des maladies des femmes	NICOLAS
Physique médicale	LÉPINE (J.)
Chimie médicale et pharmaceutique	WEILL
Chimie organique et Toxicologie	POLLOSSON (A.)
Matière médicale et Botanique	CLUZET
Parasitologie et Histoire naturelle médicale	HUGOUNENQ
Anatomie	MOREL
Anatomie générale et Histologie	X...
Physiologie	GUIART
Pathologie interne.	TESTUT
Pathologie et Thérapeutique générales	RENAUT
Anatomie pathologique.	MORAT
Médecine opératoire.	COLLET
Médecine expérimentale et comparée	LESIEUR
Médecine légale.	PAVIOT
Hygiène	POLLOSSON (M.)
Thérapeutique	COURMONT (P.)
Pharmacologie.	LACASSAGNE
	COURMONT (J.)
	PIC
	FLORENCE

PROFESSEURS ADJOINTS

Physiologie, cours complémentaire	MM. DOYON
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS,
Pathologie externe	VALLAS,
Maladies des voies urinaires	ROCHET.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Chimie minérale.	MM. BARRAL,	agrégé
Propédeutique chirurgicale	BERARD,	—
Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN,	—
Chirurgie infantile.	NOVE-JOSSERAND,	—
Accouchements.	COMMANDEUR,	—
Matière médicale.	MOREAU,	—
Embryologie.	REGAUD,	—
Anatomie topographique.	PATEL,	—
Botanique.	BRETIN,	—
Chirurgie expérimentale.	VILLARD,	—
Clinique infantile	MOURIQUAND,	—
Propédeutique urologique.	GAYET,	—
Déontologie et médecine professionnelle.	ETIENNE MARTIN,	—

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
REGAUD	ETIENNE MARTIN	BRETIN	MOURIQUAND
COMMANDEUR	LAROYENNE	LERICHE	ARLOING (F.)
GAYET	VORON	THEVENOT	GUILLEMARD
NEVEU-LEMAIRE	NOGIER	TAVERNIER	PIERY, ch
PATEL	LATARJET	CADE	SAVY, ch.....

M. BAYLE, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. MORAT, *Président* ; DOYON, *Assesseur* ;

MM. MOREL, *professeur*, et GUILLEMARD, *Agrégé*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PÈRE

Médecin principal de 1^{re} classe de l'Armée
Officier de la Légion d'honneur.

A MA MÈRE

A MA SŒUR

A MA FAMILLE — A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MORAT

Professeur de Physiologie à la Faculté de Médecine de Lyon
Chevalier de la Légion d'honneur.

*Qui nous fait le grand honneur de présider
notre thèse. La bienveillance qu'il nous a
constamment témoignée nous laisse un sou-
venir ineffaçable et des sentiments de vive
reconnaissance que nous avons à cœur de
lui exprimer ici.*

A mon Maître

MONSIEUR LE PROFESSEUR DOYON

Professeur-adjoint de Physiologie à la Faculté de Médecine
de Lyon

C'est sous sa haute direction que nous avons entrepris ce travail ; c'est à ses conseils éclairés et aux enseignements de son laboratoire que nous devons d'avoir pu le mener à bonne fin. Il fut pour nous un maître infailible, un guide indulgent et sûr dont nous avons apprécié la sollicitude à tous les instants de notre vie scolaire. Qu'il nous permette, au jour où nous recueillons le fruits de ses leçons, de lui apporter l'hommage de notre profonde gratitude et de notre respectueuse affection.

A MES AMIS

Les Docteurs **DE SABLET, TERRACOL**

THIBAUT, et WELSCH

A mes Maîtres civils et militaires

SUBSTANCES

COAGULANTES ET ANTICOAGULANTES

CONTENUES DANS LES TISSUS

BUT DE L'OUVRAGE

On peut déceler dans les tissus des substances coagulantes¹ et des substances anticoagulantes¹ agissant sur le « sang in vitro ». — Le but principal de ma thèse est de résumer les recherches récentes faites à Lyon, au laboratoire et sous la direction de M. le professeur Doyon, concernant les substances anticoagulantes et d'apporter les résultats nouveaux auxquels j'ai contribué, au sujet de la nature et de l'origine de ces substances.

¹ Une ou plusieurs.

A. — SUBSTANCES COAGULANTES DES TISSUS

Je me bornerai à un rappel des connaissances acquises, en donnant un résumé de la question traitée à fond dans une thèse récente d'Horneffer, mes recherches expérimentales concernant uniquement l'étude des propriétés anticoagulantes des tissus.

I. Historique. — Les tissus de l'organisme animal ont la propriété d'activer la coagulation du sang. L'extrait aqueux d'un organe quelconque (foie, intestin, etc.) contient une ou plusieurs substances qui, ajoutées soit à du sang extravasé, soit à du liquide d'ascite ou d'hydrocèle, en accélèrent la coagulation.

Ceci est un fait connu depuis longtemps. Constaté en 1845 par Buchanan, il fut étudié principalement plus tard par Wooldridge en 1881, A. Schmidt et Rauschenbach en 1883.

Pour Wooldridge, une grande partie du protoplasma des tissus est constituée par un sérum fibrinogène analogue à celui que l'on obtient en précipitant le sérum d'un chien par exemple par l'acide acétique faible. La prise en caillot du sang extravasé serait due à l'union de ces deux fibrinogènes.

Pour Rauschenbach, élève de A. Schmidt, les cellules des tissus, de même que les leucocytes, renferme-

raient une prothrombine qui agirait en présence du plasma sanguin. Les différents auteurs qui, par la suite, s'occupèrent de la question, essayèrent d'éclaircir la nature de cette substance coagulante. Pour Pekelharing, ce fut un ferment, une nucléo-protéide ; pour Lilienfeld, une leuco-nucléide. Morawitz décrit la thrombokinasé provenant des plaquettes de Bizzozero et Loeb, la coaguline des tissus.

Quoi qu'il en soit, les tissus contiennent une substance active agissant physiologiquement, non pas par contact comme le ferait tout corps inerte, la poussière par exemple, et manifestant son action :

1° *In vitro*, l'adjonction de quelques gouttes d'extrait aqueux d'organes augmentant très rapidement la prise en masse d'un sang recueilli aseptiquement par canule placée dans la carotide d'un lapin ;

2° *In vivo*, l'injection de ces extraits aqueux d'organes dans le torrent circulatoire produisant des thromboses généralisées dans le cœur et les veines (Boggs).

D'autre part, les tissus de chaque animal possèdent un pouvoir coagulant spécifique : les coagulines du chien sont bien plus actives sur un autre chien que sur un animal d'espèce éloignée. De plus, pour un animal donné, les divers organes ont un pouvoir coagulant différant les uns des autres, de sorte que, comme nous le verrons dans le cours de ce travail, on a pu établir une sorte de hiérarchie pour les différentes coagulines tissulaires.

II. Propriétés des coagulines tissulaires. -
Tous les extraits d'organes ont le pouvoir d'activer *in*

vitro la coagulation du sang, mais tous les organes n'agissent pas avec une force égale : l'extrait de thymus est beaucoup plus actif que l'extrait de rein.

De plus, le pouvoir coagulant des organes se montre plus ou moins accusé selon les espèces animales : par exemple, le cheval est bien plus actif que la grenouille ou le cobaye. La quantité de coaguline semble relativement fixe pour un animal donné.

C'est en partant de ces données que Horneffer a recherché à doser cette substance coagulante et quelle quantité pouvaient en contenir les tissus.

Toutes ses expériences portent, non sur du sang rendu incoagulable, mais sur du sang normal recueilli directement d'une artère. Il emploie d'autre part des extraits aqueux d'organes à des concentrations différentes, mais toujours la même quantité, une goutte par exemple ; l'extrait aqueux témoin étant le thymus dont l'action se montre particulièrement régulière.

EXPÉRIENCE. — Dans une série de petits tubes, contenant chacun deux gouttes d'extrait aqueux d'organes ci-dessous cités et aux solutions indiquées, on reçoit 1 centimètre cube de sang de lapin pris par ponction à la carotide.

Dilution qu'il faut donner aux organes de chien pour obtenir la coagulation de 1 centimètre cube de sang de lapin en :

Organes	20 à 25 s.	30 à 35 s.	45 à 50 s.
Thymus de mouton . .	1/15	1/45	1/13
Muscies	1/3	1/9	1/27
Poumons	1/1	1/30	1/90
Foie	1/8	1/24	1/72
Rein	1/6	1/10	1/34
Rate	1/10	1/30	1/90
Cerveau	1/5	1/15	1/45

On peut faire des tableaux identiques pour chaque espèce animale.

D'autre part, si pour un animal donné, le chien par exemple, on compare plusieurs séries d'expériences, on pourra très facilement, en prenant une moyenne approximative, établir une échelle du pouvoir coagulant des extraits d'organes de cet animal.

Le thymus de mouton étant toujours pris comme témoin et ayant une force coagulatrice égale à 100, on aura, en prenant toujours le chien comme exemple :

Pouvoir de coagulation du poumon.	=	70
—	—	rate . . = 65
—	—	foie . . = 53
—	—	rein . . = 40
—	—	cerveau. = 40
—	—	muscles. = 24
—	—	sérum . = 10

III. Préparation des coagulines tissulaires.

— On peut préparer très simplement un liquide ayant un pouvoir coagulant très actif en broyant un organe avec du sable fin et de l'eau et en décantant le liquide ainsi obtenu.

Un procédé plus élégant consiste en la circulation artificielle.

EXPÉRIENCE. — On sacrifie un chien par la saignée. On isole par des ligatures le système vasculaire du foie. L'organe étant complètement privé de sang, on injecte dans la veine porte 10 centimètres cubes environ de solution physiologique portée à 38 degrés. Au bout d'une minute, on recueille le liquide que l'on fait ainsi repasser dans l'organe

cinq au six fois. Le peu qui reste de solution après ces passages successifs montre un pouvoir coagulant très net. Deux gouttes de liquide de lavage du foie de chien sont reçues dans un tube contenant 1 centimètre cube de sang de lapin. Ce tube coagule en 50 secondes, le témoin en 6 minutes.

Donc, la coaguline passe de l'organe lavé dans le liquide de lavage, car le foie ainsi traité voit, au cours de ces lavages successifs, son pouvoir coagulant diminuer peu à peu, mais jamais il ne disparaît complètement. La coaguline des tissus a son pouvoir diminué par la chaleur mais non aboli; l'alcool agirait de même, mais à fortes doses (3 volumes) en précipitant cette substance. L'acide acétique à 1 pour 100 la précipite et ce précipité redissous se montre particulièrement actif.

La substance coagulante peut ainsi être préparée soit à l'état liquide soit à l'état solide.

Les extraits aqueux d'organes se putréfient avec une grande rapidité. On peut pourtant en réaliser des préparations stériles par le procédé de Zanoni (Tyndallisation alcoolique de la trypsine).

Exemple : L'extrait aqueux d'un poumon est centrifugé après décantation. Le liquide obtenu est stérilisé par adjonction de 20 pour 100 d'alcool absolu. On laisse le tout pendant une heure, on évapore dans le vide à 38 degrés pour éloigner l'alcool. On obtient un liquide opalescent fortement coagulant, mais qui, néanmoins, ne se conserve que fort peu de temps.

IV. Préparation d'une poudre coagulante. — Horneffer ayant constaté la précipitation de la

substance active coagulante des tissus par l'acide acétique s'est servi de cette propriété pour préparer une poudre coagulante.

Un poumon de cheval est fortement broyé et laissé une heure en contact avec deux fois son volume d'eau. Le tout est passé à la presse, le liquide précipité par l'acide acétique à 1 pour 100. On centrifuge : le culot desséché se présente sous l'aspect d'une poudre de couleur brun foncé conservant fort longtemps son pouvoir.

Cette préparation peut être employée soit à l'état liquide, bien qu'elle ne se dissolve pas bien dans l'eau, soit directement à l'état solide. Quelques grains de poudre font coaguler 1 centimètre cube de sang de lapin en trente-cinq secondes. Les hémorragies en nappes obtenues par les coupures superficielles, les épistaxis, les hémorragies utérines peuvent être efficacement combattues par ce procédé.

V. Travaux de Delezenne. — Il existe dans les tissus des oiseaux une substance particulièrement énergique. Le sang des oiseaux, recueilli pur, ne présente qu'une très faible aptitude à la coagulation spontanée ; si on ajoute une goutte du liquide obtenu par macération ou par expression d'un tissu, la coagulation est instantanée. La substance coagulante perd ses propriétés par le chauffage.

Les tissus empruntés à d'autres vertébrés, mis en contact avec le sang d'oiseau, sont inactifs ; il existe donc une véritable adaptation spécifique des propriétés coagulantes des tissus.

VI. **Rapport avec le fibrin-ferment.** — La substance coagulante serait un des éléments du fibrin-ferment ; par son union avec le thrombogène du plasma, elle donnerait naissance, en présence des sels de chaux, au ferment.

B. — SUBSTANCES ANTICOAGULANTES DES TISSUS

Mon travail est limité aux substances capables d'empêcher *in vitro* le sang de coaguler. On sait depuis longtemps que les coagulines masquent dans les tissus des substances anticoagulantes.

Autolyse. — Conradi a démontré que ces substances apparaissent si on soumet les organes à l'autolyse (v. p. 42).

Histones. — D'autres auteurs ont recherché dans les tissus des substances anticoagulantes. L'histone a le pouvoir de retarder pendant quelques minutes la prise du sang en caillot. D'après Lilienfeld, Foa et Lévy, l'histone est un produit de scission des nucléoprotéides ou nucléo-histones en présence d'Hel.

Foa et Lévy indiquent un procédé commode pour la préparation de l'histone. Le précipité acétique de l'extrait aqueux d'un organe, c'est-à-dire une nucléoprotéide, est soumis à l'action de l'acide chlorhydrique à 8 pour 100, renouvelé pendant trois ou quatre jours, jusqu'à ce que le liquide filtré ne donne plus de précipité ni

avec l'ammoniaque, ni saturé avec du chlorure de sodium. L'histone passe dans l'acide chlorhydrique, tandis que la nucléine reste sur le papier filtré. L'histone est alors précipitée de la solution d'acide chlorhydrique par 4 volumes d'alcool et 4 d'éther.

Le précipité, recueilli sur un filtre, est séché dans le vide sur l'acide sulfurique concentré ; la substance sèche (histone) est soluble dans l'eau.

Tous les auteurs s'accordent pour attribuer à l'histone la propriété de retarder la coagulation du sang soit *in vivo* soit *in vitro*. Mais il est à remarquer que le retard ainsi obtenu ne dépasse pas quelques minutes.

EXPÉRIENCE. — 1 centimètre cube de sang de lapin, pris directement à la carotide, est reçu sur quelques gouttes de solution aqueuse d'histone de thymus et coagule en :

	Histone de thymus.
2 gouttes	8 m. 15 s.
4 gouttes	10 m. 35 s.
6 gouttes	18 m. 25 s.
Sang témoin	5 m. 45 s.

(HORNEFFER.)

Antithrombine sécrétée par le foie. — On sait que la peptone et d'autres substances, parmi lesquelles l'atropine, font passer dans le sang une substance capable d'empêcher *in vitro* le sang de coaguler ; on sait aussi que cette substance est déversée dans le sang par le foie. Doyon, Morel et Policard ont démontré que cette antithrombine est phosphorée et d'origine nucléaire ; ces auteurs ont extrait cette nucléo-protéide du plasma de sang peptoné et montré qu'elle

préexistait dans le foie du chien. Dans la suite, Doyon et Policard ont constaté que les organes autres que le foie, et notamment la rate et le pancréas, contiennent une substance phosphorée qui paraît identique à l'antithrombine du plasma peptoné et du foie. Doyon a donné récemment plusieurs procédés permettant d'obtenir de la plupart des organes une nucléo-protéide active.

Plasma peptoné. — Pour extraire l'antithrombine du plasma peptoné de chien, on chauffe ce plasma à 100 degrés au bain-marie pendant dix minutes; on élimine le précipité par centrifugation, puis on acidifie légèrement le plasma par l'acide acétique et on chauffe à 100 degrés pendant dix minutes. L'antithrombine ainsi précipitée peut être redissoute dans une solution alcaline faible (eau distillée, 1.000; chlorure de sodium, 5; carbonate de soude, 4), reprécipitée et redissoute ainsi plusieurs fois.

Extraction du foie broyé. — L'antithrombine préexiste dans le foie de chien. On peut l'extraire soit directement du foie broyé, soit par une circulation artificielle.

L'extraction du foie broyé a lieu de la manière suivante : le foie est lavé, broyé, puis additionné d'un poids égal de la solution suivante : eau, 1.000; chlorure de sodium, 5; carbonate de soude cristallisé, 4. Le mélange est chauffé pendant quinze à vingt minutes au bain-marie bouillant dans un vase clos pour éviter toute altération ultérieure, puis abandonné pendant plusieurs heures.

On chauffe ensuite de nouveau au bain-marie bouillant pendant quinze à vingt minutes. On exprime à la presse, le liquide est centrifugé. On ajoute une petite quantité d'acide acétique à 50 pour 100 ; on chauffe, on centrifuge. Le précipité est lavé plusieurs fois de suite à l'eau distillée et dissous dans le liquide alcalin.

Circulation artificielle à travers le foie. — L'antithrombine peut être extraite du foie excisé, préalablement lavé par une circulation artificielle au moyen d'une solution faiblement alcaline.

Le liquide tel qu'il sort du foie est généralement doué de propriétés coagulantes énergiques, vraisemblablement par suite de la coexistence de coagulines avec l'antithrombine. Pour faire apparaître les propriétés anticoagulantes, il suffit de chauffer le liquide au sortir du foie pendant quelques minutes à la température d'ébullition du bain-marie.

La température du laboratoire peut suffire, après quelques heures d'attente (12 à 24 heures), à produire, sur la solution alcaline qui a traversé le foie, les mêmes effets que le bain-marie chauffé à 100 degrés.

La chaleur n'agit bien que si le milieu est alcalin. En effet, si on fait circuler à travers un foie une solution physiologique de chlorure de sodium à 9 pour 1.000, l'eau chlorurée sodique entraîne bien l'antithrombine ; mais celle-ci n'est pas immédiatement décelable ; les propriétés anticoagulantes ne se manifestent que si l'on alcalinise avant le chauffage le liquide ayant traversé le foie.

Antithrombine des organes autres que le foie. — L'extraction de l'antithrombine des organes autres que le foie chez le chien et les autres espèces animales nécessite des précautions spéciales. Doyon et Policard ont montré que l'organe doit être soumis au préalable à 110-120 degrés à l'autoclave. Ils ont constaté aussi que la digestion pancréatique aseptique, la putréfaction font apparaître en quelques heures dans certains organes une substance anticoagulante qui elle aussi résiste à 120 degrés et qui, très vraisemblablement, s'identifie avec l'antithrombine d'origine hépatique et avec la substance anticoagulante que Conradi obtient seulement après quelques semaines d'autolyse. Pour Doyon et Policard, la distribution de l'antithrombine serait calquée sur celle d'autres substances telles que le glycogène et très vraisemblablement, le fibrinogène. L'antithrombine existerait non seulement dans le foie, mais dans d'autres organes, peut-être dans tous; le foie en contiendrait une réserve facilement mobilisable pour l'ensemble de l'organisme. Seule, en effet, l'antithrombine du foie pourrait passer facilement dans le sang sous certaines influences: par exemple, expérimentalement sous l'influence de la peptone et de l'atropine.

Cas particulier. — Le foie du lapin doit être, lui aussi traité avec les mêmes précautions que les organes autres que le foie du chien. Pour la recherche de l'antithrombine, il est nécessaire de soumettre le foie du lapin à la chaleur à 110-120 degrés dans l'autoclave. Rappelons à ce sujet que la peptone et l'atropine efficaces chez le chien sont sans action sur le lapin.

Recherches personnelles. — Doyon a publié récemment de nouveaux procédés pour mettre en évidence la substance anticoagulante contenue dans les tissus. J'ai comparé les substances obtenues, notamment au point de vue de la teneur en phosphore en appliquant dans ce but la technique d'Albert Neumann, telle qu'elle est indiquée par A. Morel.

C. — ACTION DE LA CHALEUR A L'AUTOCLAVE

Pour obtenir l'antithrombine, il suffit de chauffer l'organe sans lavage préalable, tel qu'il est prélevé sur l'animal à l'autoclave à 110-120 degrés. Le liquide exsudé possède la propriété d'empêcher *in vitro* le sang de coaguler. La substance active est précipitée par l'acide acétique, le précipité dissous dans un liquide faiblement alcalin.

EXPÉRIENCE. — Foie, moins sa vésicule, provenant d'un chien tué par la saignée et section du bulbe. La glande, placée dans une marmite fermée, est chauffée pendant quarante-cinq minutes à l'autoclave à 120 degrés. On obtient 75 centimètres cubes de liquide, dont 65 sont utilisés pour l'isolement de l'antithrombine (addition de 2 centimètres cubes d'acide acétique à 50 pour 100). Chauffage, le précipité séparé par centrifugation est lavé deux fois à l'eau distillée puis dissous dans 10 centimètres cubes de solution alcaline faible. Le foie est pulvé, quatre échantillons de 50 grammes sont additionnés chacun d'un poids égal, soit d'une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1.000, soit de la solution alcaline faible; macération pendant une demi-heure; deux échantillons sont ensuite chauffés pendant quinze minutes; les mélanges sont exprimés à la presse, les liquides centrifugés. Les résultats sont consignés dans le tableau suivant :

Echantillons additionnés d'un volume égal dérivé de l'artère d'un chien.		Moment de la coagulation.
Liquide exsudé du foie.	Liquide tel quel. Précipité acétique redissous.	Incoagulable. Incoagulable.
Liquide provenant de la macération du foie.	Solution physiologique. Non bouilli. Bouilli.	Prise en 20 minutes. Incoagulable.
	Solution alcaline. Non bouilli. Bouilli.	Incoagulable. Incoagulable.

On obtient des résultats analogues avec la rate, le pancréas, l'intestin grêle, les reins, les testicules, le cerveau, les poumons et l'on peut isoler la substance active dans les liquides exsudés de ces organes.

L'intestin grêle est particulièrement favorable à cette recherche.

Intestin de chien. — L'organe est prélevé sur un chien, tué par la saignée, puis lavé et chauffé pendant quarante-cinq minutes en vase clos, à l'autoclave. On obtient 80 à 100 centimètres cubes de liquide; 10 centimètres cubes sont additionnés d'un volume égal de sang normal; le reste est utilisé pour la préparation de l'antithrombine; le précipité, lavé à différentes reprises, est dissous dans 20 centimètres cubes d'un liquide faiblement alcalin; la solution est additionnée d'un volume égal de sang normal.

Reins, pancréas, rate, poumons. — Les deux reins d'un chien de taille moyenne donnent environ 25 centimètres cubes de liquide, dont 20 centimètres cubes peuvent être utilisés pour l'isolement de l'antithrombine; le précipité est dissous dans 10 centimètres cubes

du liquide faiblement alcalin. Le liquide exsudé d'un ou deux pancréas de chien suffit également à la préparation de la substance active. En ce qui concerne la rate, il faut mieux utiliser l'organe du bœuf. On obtient des résultats comparables en pulpanctant les organes; la pulpe, placée dans un sac d'étamine, est suspendue dans une marmite émaillée fermée. Ce procédé permet seul d'obtenir le suc pulmonaire et donne d'une manière générale une quantité plus abondante de liquide. Il peut arriver que le liquide exsudé ne soit pas actif d'emblée; toutefois l'acide acétique précipite la substance anticoagulante.

Intestin du cheval. — J'ai fait des essais avec l'intestin du cheval. L'intestin était stérilisé à 110-120 degrés pendant une heure par masses de 1 kilogramme environ; j'ai obtenu, en suivant le même procédé que pour le chien, une nucléo-protéide active contenant environ 1,5 de phosphore pour 100. Il arrive que le liquide exsudé n'est pas anticoagulant d'emblée, mais il peut le devenir si on l'abandonne à la température du laboratoire jusqu'au lendemain. De même, le précipité acétique ne devient, dans certains cas, anticoagulant, qu'après plusieurs précipitations et redissolutions successives. Nous avons observé qu'une provision de plusieurs grammes de substance, inactive après une précipitation, mise à sécher pendant quarante-huit heures sous la cloche à vide avec les vapeurs d'acide sulfurique, avait acquis la propriété d'empêcher *in vitro* le sang de coaguler (expérience avec MM. Doyon et Sarvonat). Déjà, Doyon, Morel et Policard avaient observé de nombreux faits du même ordre concernant l'effet du vieillisse-

ment au cours de leurs recherches sur l'antithrombine hépatique. On en trouvera un autre exemple dans le tableau concernant l'intestin, p. 31.

Muqueuse et muscles. Intestin grêle et gros intestin.

— Si on sépare la muqueuse des tuniques musculaires, on constate qu'il est possible d'extraire la substance active des deux parties. De même, nous avons pu extraire la nucléo-protéide anticoagulante du gros intestin de cheval comme de l'intestin grêle. Pourtant, en règle générale, nous utilisons l'intestin grêle.

Intestin d'autres animaux. — On obtient des résultats en tous points comparables à ceux de l'intestin de chien, en traitant par la même méthode l'intestin d'autres espèces animales, telles que les oiseaux ou le lapin. L'acide acétique précipite, dans le liquide exsudé, la substance anticoagulante.

Ganglions. — Le tableau suivant résume une expérience concernant les ganglions mésentériques du chien :

Expériences	Provenance des échantillons additionnés chacun d'un égal volume de sang de chien.	Temps nécessaire à la coagulation des mélanges.
Ganglions du chien 15 minutes à 120 degrés.	1° Liquide exsudé. { a) Tel quel. b) Antithrombine provenant de 4 à 5 centimètres cubes et dissoute dans 5 à 6 cen- timètres cubes de solu- tion alcaline.	Incoagulable Après quelques heures
	2° Résidu pulvé, additionné de solution alcaline, macération de quelques heures ; ébullition.	Coagule après quelques heures

Testicules. — On pulpe plusieurs testicules de mouton. La pulpe est placée sur de l'étamine, dans une marmite fermée qu'on maintient à 120 degrés pendant une demi-heure. Immédiatement après le chauffage, on isole le liquide exsudé. La substance active est précipitée par l'acide acétique ; le précipité, lavé à l'eau distillée, puis à l'alcool et à l'éther, est redissous dans un liquide faiblement alcalin. En s'aidant de la centrifuge, le procédé est très rapide. Dans un cas, Doyon a dosé le phosphore et trouvé une teneur de 1,6 pour 100.

Il faut éviter de laisser macérer la glande dans le liquide exsudé ou dans une solution alcaline. Les liquides obtenus dans ces conditions contiennent une substance analogue ou identique à la gélatine qu'il est difficile d'éliminer totalement. Les précipités obtenus sont peu actifs.

Thymus. — Cet organe traité par la même méthode donne des résultats inconstants, en raison probablement de la présence d'une substance gélatiniforme qu'il est difficile d'éliminer totalement.

Résistance à la chaleur. — La substance active, isolée par l'acide acétique dans les liquides exsudés, peut être chauffée pendant plus de vingt-quatre heures à 100-105 degrés, sans perdre la propriété d'empêcher le sang de coaguler.

D. — DIALYSE CHLOROFORMIQUE

La dialyse chloroformique fournit le moyen d'obtenir les substances solubles plus ou moins mélangées au contenu cellulaire. Dastre a réussi, par ce procédé, à extraire du foie le ferment hépatique capable de transformer le glycogène en sucre. Doyon a constaté que le liquide exsudé de certains organes plongés dans une atmosphère de chloroforme contient la nucléoprotéide anticoagulante¹.

Exemple concernant le foie. — Chien de 12 kilogrammes, âgé de deux à trois ans, à jeun depuis la veille. L'animal est saigné après la section du bulbe. Pendant la saignée, on lave le foie avec plusieurs litres d'eau salée à 9 pour 1.000. Immédiatement après, on découpe la glande en lames très minces, qu'on sèche grossièrement avec un linge et qu'on suspend ensuite dans un vase, sous une cloche, au-dessus d'un réservoir contenant du chloroforme. On fait le vide dans la cloche. Une partie du foie n'est pas exposée aux

¹ Billard avait déjà observé l'action anticoagulante du suc exsudé par le foie dans ces conditions.

vapeurs du chloroforme et conservée telle quelle à côté de la cloche.

Quarante heures plus tard : *a)* on recueille le liquide exsudé; on y ajoute une petite quantité de solution alcaline faible ayant servi à laver le récipient au-dessus duquel les lames de foie étaient suspendues; le mélange est aéré, puis centrifugé; *b)* on broie les lames de foie suspendues et on fait macérer la pulpe pendant quatre heures dans un poids égal de la solution alcaline faible; le mélange est pressé, le liquide centrifugé; *c)* les fragments de foie non exposés aux vapeurs de chloroforme sont soumis au même traitement. On ajoute à chaque échantillon un volume égal de sang normal dérivé directement de la carotide d'un chien neuf.

DIALYSE CHLOROFORMIQUE

Expériences concernant le foie.

Échantillons additionnés d'un volume égal de sang normal.	Moment de la coagulation.
Liquide exsudé du foie soumis à la dialyse.	Incoagulable même après plusieurs jours.
Liquide provenant du foie soumis à la dialyse après macération.	Coagulation en quelques minutes.
Liquide provenant du foie non soumis au chloroforme, après macération.	Coagulation instantanée.

Mode d'action du chloroforme. Action de l'éther. — L'apparition de l'antithrembine peut s'expliquer soit par un phénomène d'autodigestion, soit par le déplacement d'eau qui entraîne avec elle la substance active. L'expérience suivante est en faveur de la seconde interprétation et prouve de plus que l'éther détermine les mêmes effets que le chloroforme.

EXPÉRIENCE. — On divise, en plusieurs lots, le foie, préalablement lavé, d'un très gros chien : un lot découpé en fines lanières est exposé aux vapeurs de chloroforme; un autre est conservé tel quel. A différents intervalles, on prélève simultanément :

- a) Le liquide obtenu par dialyse ;
- b) Un échantillon de foie soumis à la dialyse ;
- c) Un échantillon de foie témoin.

Le foie était broyé, la pulpe additionnée d'un poids égal de la solution alcaline faible¹ ; le mélange était ensuite pressé, le liquide centrifugé.

Les différents échantillons, ainsi que le liquide obtenu par dialyse, étaient ensuite additionnés d'un volume égal de sang normal.

Une partie du foie a été exposée aux vapeurs d'éther.

Dès le début de la dialyse, le liquide exsudé est anticoagulant. Les macérations du foie soumis à la dialyse restent toujours coagulantes. Le foie témoin ne devient anticoagulant qu'après plusieurs jours d'autolyse.

¹ Eau distillée, 1.000 ; chlorure de sodium, 5 ; carbonate de soude, 4.

Echantillons additionnés d'un volume égal de sang normal.	Moment de la coagulation.
Liquide exsudé du foie soumis à la dialyse chloroformique.	Après 3 heures de dialyse. Après 12 heures de dialyse. Après 5 jours de dialyse.
Incoagulable. Incoagulable. Incoagulable.	
Liquide provenant de la macération du foie soumis à la dialyse.	Après 3 heures de dialyse. Après 12 heures de dialyse. Après 5 jours de dialyse.
Prise en quelques minutes. Prise en quelques minutes. Prise en quelques minutes.	
Liquide provenant de la macération du foie témoin.	Après 3 heures de dialyse. Après 12 heures de dialyse. Après 5 jours de dialyse.
Prise en quelques minutes. Prise en quelques minutes. Incoagulable.	
Liquide exsudé du foie soumis aux vapeurs d'éther.	Après 5 jours de dialyse.
Incoagulable.	
Liquide provenant de la macération du foie soumis aux vapeurs d'éther.	Après 5 jours de dialyse.
Prise en 3 à 4 minutes. (Doyon.)	

Expérience concernant l'intestin. — Doyon a condensé dans un tableau les résultats d'une expérience aussi complète que possible; on remarquera que le liquide provenant de la macération à froid de la pulpe non chauffée de l'intestin possède, le premier jour, une action coagulante énergique, le troisième jour, le pouvoir inverse. Ce résultat est dû, soit à l'atténuation des coagulines, soit à la mise en liberté de l'antithrombine, sous l'influence de la solution alcaline. Le liquide provenant de la macération de la pulpe préalablement portée à 120 degrés n'acquiert tout son pouvoir anticoagulant qu'après avoir été soumis à l'ébullition pendant quelques minutes.

Intestins lavés provenant de deux chiens tués par la saignée.	PROVENANCE DES ÉCHANTILLONS additionnés chacun d'un volume égal de sang de chien dérivé directement d'une artère.		Temps nécessaire à la coagulation des mélanges.
Intestins découpés en fines lanières exposées aux vapeurs de chloroforme pendant 24 heures	Liquide exsudé recueilli.	1° Liquide tel quel, après séparation du chloroforme par décantation et barbotage d'air. 2° Anthrrombine extraite de 10 centimètres cubes (précipitation par l'acide acétique dilué; lavage du précipité; dissolution dans 10 centimètres cubes de solution alcaline faible ¹ ; deux précipitations et dissolutions successives).	Incoagulable
		1° Une partie de la pulpe est additionnée d'un poids égal de la solution alcaline; après 6 heures, le mélange est exprimé, le liquide est centrifugé, pas de chauffage. Les lanières ayant exsudé sont pulpées.	1 à 2 minutes Incoagulable Incoagulable
		a) Essai du liquide le jour même. b) Le surlendemain (aucune putréfaction). c) Anthrrombine extraite du liquide le premier jour (après séparation des albuminoïdes par chauffage).	Incoagulable Incoagulable
		2° L'autre partie de la pulpe est soumise pendant 30 minutes à l'autoclave à 120 degrés. a) Liquide exsudé. (Tel quel. Anthrrombine extraite de quelques centimètres cubes. b) Le résidu (pulpe) est additionné d'un poids égal de solution alcaline; après 6 heures, le mélange est exprimé, le liquide est centrifugé.	Incoagulable Incoagulable Coag. en 1 h. Incoagulable Incoagulable

¹ Eau distillée, 1.000 grammes; chlorure de sodium, 5 grammes; carbonate de soude, 4 grammes.

Expérience concernant les ganglions lymphatiques. — Des ganglions mésentériques, provenant du bœuf, ont été soumis, pendant trente-six heures, à la dialyse chloroformique. Les résultats des essais ont été résumés dans le tableau suivant :

DIALYSE CHLOROFORMIQUE

Expériences concernant les ganglions.

Expériences.	Provenance des échantillons additionnés chacun d'un égal volume de sang de chien.	Temps nécessaire à la coagulation des mélanges.
Ganglions du bœuf. Dialyse chloroformique pendant 36 heures.	1 ^o Liquide exsudé. { a) Tel quel, après élimination du chloroforme. b) Antithrombine extraite de 20 centimètres cubes et dissoute dans 20 centimètres cubes de solution alcaline faible.	Incoagulable. Incoagulable.
	2 ^o Résidu pulvé, additionné de solution alcaline. Après 4 heures, le mélange est exprimé, le liquide centrifugé. { a) Liquide non chauffé. b) Liquide soumis à l'ébullition pendant 10 minutes, puis centrifugé.	De 1 à 2 min Incoagulable.

E. — ENTRAINEMENT DE L'ANTITHROMBINE PAR L'EAU SALÉE ADDITIONNÉE DE CHLOROFORME

Nous avons vu que si on fait circuler à plusieurs reprises, à travers un *foie de chien*, une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1.000, le liquide obtenu est toujours doué de propriétés coagulantes énergiques vis-à-vis du sang *in vitro*. Pour faire apparaître les propriétés anticoagulantes, il est nécessaire d'alcaliniser, puis de chauffer le liquide ayant traversé le foie (Doyon, Morel, Policard).

Si l'on ajoute du chloroforme à la solution physiologique de chlorure de sodium destinée à passer à travers le foie, le liquide possède d'emblée au sortir de la glande des propriétés anticoagulantes énergiques.

EXPÉRIENCE. — Chien à jeun depuis trente-six heures, pour éviter que le liquide de circulation soit trop chargé en glycogène ; tué par la saignée et la section du bulbe. Pendant la saignée, lavage du foie. Dès que le lavage est terminé, on fait passer rapidement six fois de suite à travers le foie un mélange constitué par 100 centimètres cubes de chloroforme et 800 centimètres cubes d'une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1.000, en ayant soin de provoquer de temps en temps la distension de la glande. Le

chloroforme est ensuite éliminé par décantation et barbotage d'air.

a) Un premier échantillon, prélevé brut, débarrassé du chloroforme, est essayé sur le sang à un volume égal. Le mélange reste liquide plusieurs jours.

b) Le reste du liquide, 600 centimètres cubes environ, est chauffé pendant six minutes au bain-marie bouillant. On élimine le coagulum par la centrifugation ; le liquide est additionné de 10 centimètres cubes d'une solution d'acide acétique à 50 pour 100, puis chauffé. Le précipité lavé deux fois à l'eau distillée est dissous dans 30 centimètres cubes de liquide faiblement alcalin. La solution est additionnée d'un volume égal de sang pris directement à la carotide d'un chien. Le mélange reste liquide plusieurs jours.

Les résultats de cette expérience sont à rapprocher de ceux fournis par la dialyse chloroformique et permettent d'exclure dans ce cas l'hypothèse de l'autolyse.

On n'a pas obtenu de résultats positifs avec des organes autres que le foie. Nous avons fait circuler un mélange d'eau salée et de chloroforme à travers l'*intestin* et le *poumon*. La circulation se fait d'ailleurs très mal dans ces conditions à travers l'intestin ; le chloroforme détermine une contraction permanente des tuniques musculaires.

Rapprochement avec les effets de l'injection de chloroforme dans la veine porte. — Le sang dérivé d'une artère, à travers un foie lavé et excisé, par la veine porte, entraîne dans certaines conditions l'antithrombine qui préexiste dans la glande

hépatique. Doyon a constaté que l'injection de chloroforme dans le tube qui fait communiquer l'artère du chien normal avec la veine porte du chien excisé, pendant le passage du sang, favorise l'apparition de la substance anticoagulante. (Rappelons que, *in vitro*, le chloroforme provoque instantanément la prise en masse du sang.)

EXPÉRIENCE I. — Le foie lavé provenait d'un chien de 18 kilogrammes, âgé de dix ans environ ; cinq heures après le lavage, on dérive à travers la glande le sang carotidien d'un chien neuf. Entre chaque prise (de 1 à 7) on comprime le tube de sortie pendant cinq secondes pour distendre le foie ; dès la troisième prise on injecte 45 centimètres cubes d'eau chloroformée dans le tube qui relie la carotide à la veine porte. Très rapidement, le sang coagule en amont du foie ; le liquide qui s'écoule de la glande est incoagulable et possède la propriété d'empêcher le sang normal de coaguler.

EXPÉRIENCE II. — *Conditions expérimentales comparables.* Le foie lavé provenait d'un chien de cinq à six ans. Vingt-quatre heures après le lavage, on dérive à travers la glande le sang carotidien d'un chien neuf. Pendant la quatrième prise, on injecte dans le tube qui relie la carotide à la veine porte un peu de chloroforme agité avec 50 centimètres cubes d'eau. Le sang coagule en amont du tube pendant la prise 7 ; à partir de ce moment, l'écoulement a lieu goutte à goutte.

Injection d'eau chloroformée dans la veine porte.

Expériences	Echantillons recueillis en aval du foie	Conditions particulières.	Moment de la coagulation.
I	1	» »	Prise en masse en quelques instants.
	2	» »	» »
	3	Début de l'injection d'eau chloroformée.	» »
	4	» »	» »
	5	» »	» »
	6	» »	Coagulation partielle.
	7	Une partie est conservée telle quelle. Une partie est additionnée d'un volume égal de sang normal.	Incoagulable même après plusieurs jours. Le mélange coagule le lendemain.
	8	Le liquide écoulé goutte à goutte pendant la nuit, additionné d'un volume égal de sang normal.	Incoagulable même après plusieurs jours.
II	1	» »	Prise en masse en quelques instants.
	2	» »	» »
	3	» »	» »
	4	Injection rapide de chloroforme.	» »
	5	» »	» »
	6	» »	» »
	7	» »	Coagulation tardive et partielle.
	8	Une partie est conservée telle quelle. Une partie est additionnée d'un volume égal de sang normal.	Incoagulable même après plusieurs jours. Coagulation partielle trois jours après.
	9	» »	Incoagulable même après plusieurs jours.

F. — AUTOLYSE EN PRÉSENCE DE CHLOROFORME

Si on fait macérer à l'étuve un intestin de chien dans une solution faible de carbonate de soude, en présence de chloroforme, on constate la mise en liberté d'une substance anticoagulante contenant entre 3 et 4 pour 100 de phosphore.

Conditions expérimentales. — On sacrifie un chien par la saignée. L'intestin est prélevé au-dessous du pancréas, en ayant soin d'abraser avec soin le mésentère et la graisse. L'organe est ensuite lavé, puis pulvé. La pulpe est additionnée d'un poids égal de solution alcaline faible (eau, 1.000 ; carbonate de soude, 4 ; chlorure de sodium, 5) et d'environ 100 centimètres cubes de chloroforme. Le mélange est abandonné à l'étuve.

Au bout d'un intervalle qui a varié de trente-six heures à huit jours, on sépare, par la filtration, le liquide du magma. Le filtrat est faiblement alcalin, limpide, légèrement coloré en jaune ; mélangé volume à volume avec du sang normal, il empêche ce sang de coaguler. L'acide acétique précipite une substance qui, redissoute dans l'eau alcaline faible, communique à ce liquide le pouvoir d'empêcher *in vitro* le sang de coaguler.

Cette substance anticoagulante est soumise à plusieurs précipitations et redissolutions successives, puis lavée à l'alcool et à l'éther.

Dans un cas, après trente-six heures de digestion, nous avons trouvé, après trois précipitations et redissolutions successives, une teneur de 3,6 pour 100 de phosphore.

Rappelons que l'intestin soumis, en vase clos, à 110-120 degrés dans l'autoclave, exsude un liquide qui contient une nucléo-protéide renfermant environ 1,5 de phosphore. L'autodigestion de l'intestin, dans les conditions où nous nous sommes placé, détermine la mise en liberté d'une substance se rapprochant, par sa teneur en phosphore, des nucléïnes.

EXPÉRIENCE I. — Un chien est sacrifié par la saignée, section du bulbe. L'intestin est prélevé au-dessous du pancréas, pulvé et broyé, on obtient une masse de 300 grammes. On y adjoint 300 grammes d'un liquide alcalin faible¹ et 100 grammes de chloroforme, le tout est mis à l'étuve à 35 degrés et abandonné pendant trente-six heures. Au bout de ce laps de temps, on filtre et on élimine le chloroforme par décantation.

Une partie du liquide brut fut immédiatement essayé sur le sang, après aération pour se débarrasser des dernières traces de chloroforme. Action anticoagulante très marquée. Pas de caillot trois jours après la prise.

Le reste du liquide, après avoir été soumis à l'ébullition (précipité à peu près nul), fut précipité par l'acide acétique à 50 pour 100.

¹ Eau distillée, 1.000; carbonate de soude, 4; chlorure de sodium, 5.

On fait deux parts du précipité : l'une pour essai sur le sang, l'autre pour le dosage du phosphore.

1° Le précipité acétique, lavé deux fois à l'eau distillée pure, à l'alcool et à l'éther et redissous dans une faible quantité de solution alcaline faible¹, empêche la coagulation du sang pendant plusieurs jours.

2° Le dosage du phosphore nous a donné dans un cas 3,4 pour 100 et, dans une seconde expérience, 3,6 pour 100.

Pour obtenir une substance plus pure, nous avons reprécipité de nouveau l'antithrombine dissoute en solution alcaline faible par l'acide acétique. Après deux précipitations et redissolutions successives, nous avons fait un nouvel essai sur le sang. Pas de coagulation. Les tubes, en observation, ne présentaient, au bout de trois jours, ni trace de caillot, ni hémolyse.

EXPÉRIENCE II. — Chien sacrifié par la saignée. L'intestin est prélevé au-dessous du pancréas, lavé et pulpé. La pulpe, représentant une masse de 300 grammes, est additionnée de 300 centimètres cubes de solution alcaline faible et de 100 grammes de chloroforme. On met à l'étuve à 35 degrés et on abandonne huit jours. On filtre et l'on obtient au bout de vingt-quatre heures d'attente 200 centimètres cubes de liquide très limpide, légèrement coloré en jaune, à réaction légèrement alcaline.

Un échantillon de ce liquide brut est essayé sur le sang, après décantation et aération pour chasser le chloroforme. Résultat positif. Pas de coagulation pendant quatre jours au moins.

Un autre échantillon est porté au bain-marie à ébullition pendant quelques minutes. Léger louche, mais pas de précipité.

Le reste du liquide est reprécipité par quelques centi-

mètres cubes d'acide acétique à 50 pour 100. Le précipité, recueilli par centrifugation, lavé deux fois à l'eau distillée, est redissous dans 40 centimètres cubes de solution alcaline faible. Une légère partie est essayée sur le sang à volume égal. Résultat positif. Pas de coagulation le surlendemain.

Le précipité dissous dans 40 centimètres cubes d'eau alcaline faible, relavé et redissous, a montré un pouvoir anticoagulant également actif.

On dose le phosphore. Partant de 0,105 de substance à doser, nous obtenons une teneur en phosphore de 3,1 pour 100.

On peut même isoler facilement l'antithrombine de l'intestin macéré pendant quelques heures dans de l'eau salée additionnée de chloroforme ou de toluène.

EXPÉRIENCE. — On sacrifie un chien par la saignée. L'intestin est prélevé *au-dessous du pancréas*, lavé et pulvé. La pulpe est mélangée puis répartie en deux lots de 170 grammes chacun. Chaque lot est additionné de 100 grammes d'une solution de chlorure de sodium à 9 pour 1.000 et reçoit, l'un 50 grammes de chloroforme, l'autre 10 grammes de toluène. Les macérations sont abandonnées à la température du laboratoire qui, dans la journée, dépasse 34 degrés (expérience faite au mois de juillet).

Après trente heures, on centrifuge les mélanges. On obtient, dans les deux cas, environ 90 centimètres cubes de liquide. On ajoute à chaque échantillon 3 centimètres cubes d'une solution d'acide acétique à 50 pour 100, on chauffe une à deux minutes au bain-marie bouillant. Le coagulum est isolé par la centrifugation, lavé à l'eau distillée, puis trituré avec 25 centimètres cubes de la solution alcaline faible. On chauffe quelques instants au bain-marie. On sépare ensuite le liquide par la centrifugation; ce liquide, mêlé volume à volume à du sang normal, *in vitro*, empêche pendant plusieurs jours ce sang de coaguler; il contient

l'antithrombine, qu'on peut précipiter à nouveau par l'acide acétique, puis redissoudre dans la solution alcaline.

On peut obtenir, en suivant la même technique, des liquides actifs, quoique à un moindre degré, en partant d'une macération de pulpe intestinale dans l'eau salée sans addition de chloroforme ou de toluène, après une courte attente de trente-cinq à quarante minutes seulement.

Résultats antérieurs concernant l'autolyse. — Conradi a démontré que les organes soumis à l'autolyse abandonnent une substance anticoagulante. Nous rappellerons brièvement les résultats obtenus par cet auteur.

Conradi prépare les organes soumis à l'autolyse par deux méthodes :

a) La méthode antiseptique; b) la méthode aseptique.

a) *Méthode antiseptique.* — On hache 500 grammes d'un organe fraîchement prélevé que l'on met en flacon avec 100 centimètres cubes de chlorure de sodium à 6 pour 1.000 et une couche de toluène de 5 centimètres de haut. On agite le tout et on l'abandonne plusieurs semaines à l'étuve à 37 degrés. De temps à autre, le toluène est renouvelé. On filtre. Le filtrat, soumis à l'action du vide pour éloigner le toluène, est diminué de moitié de son volume. On ramène au volume normal par l'eau stérilisée et du carbonate de soude stérile est ajouté jusqu'à apparition d'une réaction alcaline. On filtre de nouveau sur bougies Chamberland et on fait un essai bactériologique.

b) *Méthode aseptique.* — Les organes prélevés avec précautions antiseptiques sont soumis deux minutes à l'action de l'eau bouillante, lavés à l'eau froide aseptique puis mis à l'étuve à 37 degrés. Le liquide exsudé est recueilli. Après essai bactériologique, on ajoute du carbonate de soude stérile jusqu'à réaction alcaline.

S'il s'agit d'animaux de boucherie, les organes sont plongés d'abord dans une solution de sublimé à 1 pour 1.000, puis à l'action de l'eau bouillante après adjonction de sulfure d'ammonium, pendant une ou deux minutes. On passe ensuite à l'eau froide stérile et on continue comme plus haut.

Au bout de quelque temps de séjour à l'étuve, la liquéfaction commence à se faire. Et là, on remarque de grandes différences dans la manière de se comporter des divers organes, rapide dans certains cas, très lente et même presque nulle dans d'autres. On peut établir une série descendante pour le pouvoir de liquéfaction des organes : pancréas et poumon en tête, puis testicules, ganglions lymphatiques, muscles, foie, rate, thymus, moelle osseuse, ovaires, glandes thyroïdes, intestin, estomac. L'autodigestion des reins et du cerveau est la moins considérable. On remarque de plus que le pouvoir de liquéfaction des organes embryonnaires dépasse de beaucoup celui des organes adultes.

L'autophagie de la levure est très accusée.

Les organes soumis à l'autolyse aseptique ne se comportent pas de la même façon que ceux soumis à l'autolyse antiseptique. Dans le premier cas, la liquéfaction s'obtient en quelques jours, il faut plusieurs semaines pour atteindre le même degré dans le deuxième cas.

Résultats obtenus. — a) *Autolyse antiseptique.* — A l'autolyse antiseptique des organes tels que : ganglions lymphatiques, ovaires, foie, rate, intestin, capsules surrénales et thymus, apparaissent des substances qui retardent la coagulation.

Les résultats obtenus avec ces organes sont satisfaisants. Ils sont moins beaux, quoique quantitativement égaux, avec les testicules, les muscles et le poumon.

On n'obtient rien avec le cerveau, la moelle osseuse, l'estomac et les reins.

Le tableau suivant, réunissant quelques expériences de Conradi, fera mieux ressortir ces résultats.

ORGANE	Sang employé.	Durée de l'autolyse	Quantité de l'extrait employé.	Quantité de sang employé.	Temps de la coagulation.	Coagulation normale.
Foie de bœuf	Sang de lapin	8 jours	cc. 0,5	cc. 4-5	45'	6'
—	—	43 —	1	4-5	23'	5'
—	—	12 mois	0,5	4-5	10'	4'
Foie de chien	—	8 jours	0,5	4-5	25'	5'
Foie d'embryon de veau	—	30 —	0,5	4-5	52'	6' 1/2
Thymus de veau	—	43 —	0,5	4-5	80'	11'
Rate de bœuf	—	9 mois	0,5	4-5	4 h. 1/2	7'
Pancréas de bœuf	—	48 jours	1	4-5	50'	8'
Ovaires de vache	—	6 mois	0,5	4-5	20 h.	7' 1/2
Ganglions lymphatiques de bœuf	—	23 jours	1	4-5	immédiat ¹	20'
—	Sang de chien	36 —	1	4-5	24'	3'
Pancréas de bœuf	—	12 —	0,5	4-5	32'	4'
Foie de bœuf	—	12 mois	0,5	4-5	13'	4' 1/2
Rate de bœuf	—	9 —	1	4-5	62'	4' 1/2
Ovaires de vache	—	6 —	0,5	4-5	immédiat ¹	4'

b) Autolyse aseptique. — Les essais faits avec organes soumis à l'autolyse aseptique donnent des effets à peu près analogues. Mais s'il n'existe pas de différences fondamentales dans la marche et le résultat des expériences, le temps nécessaire à la formation et à la mise en liberté des substances anticoagulantes se trouve ici très raccourci.

La présence des antiseptiques en ralentit la formation. De sorte que pour calculer le temps d'apparition de ces substances, il ne faut se baser que sur l'autolyse aseptique.

Dès les premières vingt-quatre heures, le pouvoir antithrombinique apparaît; il augmente ensuite progressivement pour atteindre un maximum au bout de quelques

jours ; il s'y maintient quelque temps, mais si on prolonge l'expérience, il décroît puis disparaît.

Le tableau suivant donne le résultat de quelques expériences typiques :

ORGANES	Sang employé.	Durée de l'autolyse.	Quantité d'extrait employé.	Quantité de sang employé.	Temps de la coagulation.	Coagulation normale.
Foie de bœuf	Lapin	24 heures	c. c. 0,5	c. c. 4-5	31'	14'
Foie de lapin	—	24 —	1	4-5	40'	7'
Foie de chien	—	24 —	1	4-5	30'	10'
Foie embryon	—	17 —	0,5	4-5	23'	9'
Muscles de chien	—	2 —	1	4-5	immédiat	4'
Pancréas de bœuf	—	10 —	1	4-5	38'	6'

On constate qu'à l'autolyse aseptique du foie de lapin au bout de 22 heures, du foie de chien au bout de 16 heures, le facteur anticoagulant apparaît. La rate de chien qui, au bout de 24 heures d'autolyse, ne donne pas d'effet antithrombinique sur le sang de lapin était active au bout de 20 heures, si on faisait l'essai sur du sang de chien.

Après 12 mois d'autolyse, le foie de bœuf exerce une action anticoagulante nette sur le sang de chien et de lapin. La rate de bœuf au bout de 9 mois, la thyroïde de porc au bout de 8 mois ont également la même action.

Par contre, après 6 mois d'autolyse, les ganglions lymphatiques du bœuf avaient perdu leur pouvoir sur le sang de lapin, tout en le conservant sur le sang de chien; il en était de même des testicules de taureau.

D'où on peut conclure que le sang de chien est un réactif plus sensible que le sang de lapin pour étudier la réaction de l'antithrombine. On peut rapprocher de ce fait l'action de la peptone qui n'exerce aucune action sur le foie du lapin.

La réaction des liquides obtenus par l'autolyse soit aseptique, soit antiseptique doit être faiblement alcaline et cela est généralement. Mais le foie, le muscle et l'intestin acquièrent très rapidement une réaction acide. Le foie de chien autolysé aseptiquement est alcalin après 2 heures, acide après 6 heures. Le muscle de chien, alcalin au début, est déjà, après 5 heures, faiblement acide; de même le poumon après 14 jours d'autolyse antiseptique. La réaction a une grosse importance, quelques exemples réunis en tableau la feront mieux comprendre.

Organe	Sang. employé	Durée de l'autolyse.	Quantité d'extrait employé.	Quantité de sang employé.	Temps de coagulation	Coagulation normale.	Observation
Intestin de porc.	Sang. de chien.	40 jours	0,5	4-5	10'	4"	Réaction acide. HCl=0,36
—	—	—	—	—	38'	4 1 2	Réaction alcaline.

L'on voit ainsi qu'un intestin autolysé, dont le liquide avait une teneur en acide chlorhydrique égale à 0,36 pour 100, ne manifestait pas de pouvoir anticoagulant. Dès que la réaction acide disparaissait (adjonction de carbonate de soude jusqu'à réaction faiblement alcaline), le pouvoir anticoagulant réapparaissait.

Il existe pourtant une exception pour le foie : l'autolyse de cet organe produit une acidification naturelle qui ne gêne en rien l'action de l'antithrombine.

Rétention de la substance coagulante par les organes autolysés. — Les organes frais ont une action coagulante nette, cette propriété se retrouve-t-elle encore dans les extraits des organes autolysés? Une autolyse courte de

l'organe ne suffit pas, en effet, à faire disparaître cette action accélérante. On voit ainsi qu'il y a une grande différence dans la manière de se comporter des substances qui accélèrent et de celles qui retardent la coagulation. L'anticoaguline sort facilement de l'organe; la coaguline y est fortement retenue.

Caractères de la substance ou des substances anticoagulantes. — a) Le suc anticoagulant résiste à la cuisson, le chauffage renforce l'action antithrombinique. On obtient pourtant des résultats inverses avec le thymus de veau et la levure.

b) Il passe sans modifications à travers les filtres Chamberland, sauf pour ce qui concerne les levures autolysées, où la filtration amènerait une diminution d'action.

c) Les filtrats restent actifs si on les agite avec des substances en poudre : charbon, lycopode, amidon.

d) Le suc anticoagulant diffuse à travers le parchemin.

e) Il est précipité par l'alcool absolu.

f) Le chauffage pendant une demi-heure, après addition d'acide acétique à 1 pour 100 jusqu'à réaction neutre, n'a pas éliminé le pouvoir anticoagulant des ganglions lymphatiques autolysés.

g) Si on prend 1 centimètre cube de suc de ganglions autolysés, plus 5 centimètres cubes de sang de lapin, on rend ce dernier incoagulable. Si on recueille le plasma et qu'on l'ajoute à un autre échantillon de sang, on obtient un retard de coagulation.

h) *In vivo*, les coagulines injectées amènent la mort par thromboses. Les anticoagulines injectées produisent d'abord une accélération du pouvoir coagulant qui peut aller jusqu'à la mort, puis une phase inverse.

Comparaisons. — Nous sommes donc en présence de deux substances bien définies : l'une, la substance coagulante, très adhérente aux cellules de l'organe passant par les filtres Chamberland et augmentant d'intensité sous

l'action du chlorure de calcium ; l'autre, la substance anticoagulante, non influencée par la chaleur, n'adhérant pas aux cellules, non influencée par le chlorure de calcium.

L'introduction de ces deux substances par injection peut provoquer une réaction de l'organisme d'ordre inverse.

G. — ACTION DE LA PEPSINE ET DE LA TRYPSINE SUR LA NUCLÉO-PROTÉIDE ACTIVE

J'ai employé principalement la pepsine, tantôt en éliminant l'intervention possible des microbes par le chloroforme, tantôt sans addition d'antiseptiques. J'ai cependant fait quelques essais avec des pancréatines sans avoir eu le temps de les poursuivre. Toutefois, j'ai constaté que les pancréatines du commerce contiennent généralement une nucléo-protéide active qui s'identifie avec celle qu'on peut extraire de l'intestin.

I. *Digestion pepsique.* — J'ai soumis à l'action de la pepsine et de l'acide chlorhydrique la nucléo-protéide que j'ai extraite de l'intestin du chien et du cheval ; j'ai constaté qu'après un séjour à l'étuve qui a varié de plusieurs heures à deux ou trois jours, il reste un résidu plus riche en phosphore que la nucléo-protéide utilisée ; ce résidu, dissous après lavage à l'eau distillée, à l'alcool et à l'éther, dans la solution alcaline faible, empêche le sang de coaguler. La teneur en phosphore de ce résidu s'approche de celle des nucléines. Dans un cas, j'ai trouvé 4,8 pour 100. Dans d'autres cas, j'ai trouvé des chiffres de phosphore moins élevés : 3,3 pour 100 ; 2,2 pour 100, après plusieurs jours de

digestion. Il y a de nouvelles recherches à faire dans cet ordre d'idées.

EXPÉRIENCE. — 25 centigrammes d'antithrombine, provenant de l'intestin de chien, sont mis à l'étuve à 35 degrés, avec 120 centimètres cubes d'eau distillée, 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique et environ 2 décigrammes de pepsine ; on abandonne le tout pendant quarante-huit heures, en renouvelant, au bout de vingt-quatre heures, l'eau, l'acide et la pepsine. Le résidu de la digestion est recueilli, lavé deux fois à l'eau distillée ; une partie, dissoute dans une très petite quantité de solution alcaline faible, est essayée sur le sang. Résultat positif. Ce mélange reste liquide pendant trois jours au moins.

Le reste du dépôt est dissous dans 20 centimètres cubes d'eau alcaline faible, reprécipité par l'acide acétique à 50 pour 100, lavé à l'eau distillée, à l'alcool et à l'éther, et mis à l'étuve à 110 degrés, en vue du dosage de phosphore.

Le dosage de phosphore nous a donné une teneur de 4,8 pour 100.

Dans une série d'expériences, nous avons essayé de comparer l'activité de la nucléo-protéide et du résidu de la digestion pepsique.

EXPÉRIENCE. — La nucléo-protéide active initiale provenait du gros intestin du cheval. Dissoute dans 100 centimètres cubes de solution alcaline, on en fait deux parts de 50 centimètres cubes chacune, que l'on reprécipite par l'acide acétique ; les précipités sont lavés deux fois à l'eau distillée. L'un est mis à sécher sous la cloche à vide, l'autre est mis en digestion à l'étuve à 35 degrés avec 2 décigrammes de pepsine, 1 centimètre cube d'acide chlorhydrique, 100 centimètres cubes d'eau distillée et 10 centimètres cubes de chloroforme anesthésique. On laisse à

l'étuve vingt-quatre heures. Le lendemain, le précipité initial et le résidu de la digestion sont recueillis et dissous dans 10 centimètres cubes de solution alcaline faible (le résidu avait été lavé à l'eau distillée et à l'alcool pour éliminer les traces de chloroforme).

On prépare alors deux séries de quatre tubes où l'on place les deux liquides à essayer à quatre dilutions progressives et on essaie sur le sang à volume égal. Voici les résultats obtenus :

Dilutions.	Liquide non digéré.	Liquide digéré.	Témoins.
4 cc.	Incoagulable le lendemain.	Incoagulable le lendemain.	Coagule en 5 minutes
3 cc.	— —	— —	
2 cc.	— —	— —	
1 cc.	Coagule	Quelques caillots	
On ramène à 8 cc. de liquide par adjonction d'eau alcaline.	en 25 minutes.	au bout de 25 minut.	

Nous avons dosé le phosphore dans un échantillon provenant du résidu de la digestion pepsique du gros intestin du cheval et trouvé une teneur de 3,3 pour 100.

II. *Substance anticoagulante des pancréatines.* — Les pancréatines du commerce contiennent une nucléo-protéide renfermant de 1 à 2 pour 100 de phosphore. Dans un cas, j'ai trouvé 1,7. On ajoute quelques grammes de pancréatine à une solution alcaline faible, puis on précipite la nucléo-protéide par l'acide acétique. Le précipité est lavé à l'eau distillée, à l'alcool

et à l'éther, redissous dans la solution alcaline faible ; la solution empêche le sang *in vitro* de coaguler.

EXPÉRIENCE. — On dissout 50 grammes de pancréatine en poudre dans 5 litres d'eau alcaline. On porte dix minutes au bain-marie bouillant et, après une heure ou deux d'attente, on filtre. Le liquide obtenu par la filtration est précipité par l'acide acétique à 50 pour 100, à raison de 3 centimètres cubes pour 100 centimètres cubes de liquide. Ce précipité obtenu, chauffé quelques minutes au bain-marie est séparé par centrifugation et lavé plusieurs fois à l'eau distillée.

On fait deux parts du précipité. L'une redissoute dans une faible quantité de solution alcaline faible est filtrée et essayée sur le sang à volume égal. Action anticoagulante énergique. Pas de caillot au bout de trois jours d'observation.

Dans l'autre part, nous avons dosé le phosphore et trouvé une teneur de 1,6 pour 100.

On peut obtenir des résultats identiques en partant des pepsines du commerce ; la substance active est phosphorée et probablement identique à l'antithrombine. Dans les échantillons étudiés par nous, cette substance précipitait par l'alcool, mais non par l'acide acétique.

Les papaïnes (d'origine végétale) sont inactives ; les précipités obtenus, soit par l'alcool, soit par l'acide acétique, sont sans action sur le sang et ne contiennent que des traces ou pas de phosphore.

H. — PROPRIÉTÉS ANTICOAGULANTES DE L'ACIDE NUCLÉINIQUE EXTRAIT DE L'INTESTIN

J'ai participé aux recherches de MM. Doyon et Sarvonat concernant la préparation de l'acide nucléinique de l'intestin. L'acide nucléinique, extrait de l'intestin suivant la méthode d'Albert Neumann, possède la propriété d'empêcher *in vitro* la coagulation du sang. L'action de la nucléo-protéide qu'on extrait des tissus doit donc être rapportée au groupe phosphoré spécifique, à l'acide nucléinique.

Conditions expérimentales. — 1.500 grammes d'intestin de cheval sont mis à bouillir une heure avec 2 à 3 litres d'eau légèrement acidifiée par l'acide acétique. On filtre. On pulpe l'intestin et on ajoute à la pulpe 3 litres d'eau contenant 50 à 60 grammes de soude. On fait bouillir pendant deux heures, en ajoutant peu à peu 250 grammes d'acétate de soude. La substance se dissout dans le liquide. On chauffe en ayant soin de maintenir le volume d'eau. On neutralise avec l'acide acétique. On filtre et on réduit le volume du filtrat à 1 litre ou 1/2 litre. On ajoute à la solution, encore chaude, un volume égal d'alcool. Le sel de soude de l'acide nucléinique se précipite au fond et

sur les parois du vase. On le sépare par décantation et filtration ; on le dissout dans environ 500 centimètres cubes d'eau ; on chauffe ensuite au bain-marie cette solution jusqu'à apparition d'un précipité qui se sépare bien, le liquide devenant très clair ; on filtre et on précipite par l'alcool. Le sel de soude pur ne donne aucun précipité par l'alcool, mais la précipitation a lieu si on ajoute de petites quantités d'une solution concentrée d'acétate de soude. On recueille le précipité, on le dissout dans l'eau et on le précipite par l'acide chlorhydrique dilué ; l'acide nucléinique peut être lavé dans l'eau distillée. Repris par de l'eau alcaline, il communique à la solution un pouvoir anticoagulant très énergique. Dans un cas, l'acide nucléinique préparé contenait environ 9 pour 100 de phosphore.

CONCLUSIONS

I. — Les tissus frais contiennent une ou plusieurs substances coagulantes qu'on désigne sous le nom de coagulines.

II. — Les coagulines tissulaires masquent les anticoagulines tissulaires.

III. — Si on soumet les organes, soit à la dialyse chloroformique, soit à 110-120 degrés en vase clos, la plupart exsudent un liquide anticoagulant d'emblée. La substance active contenue dans le liquide exsudé est une nucléo-protéide.

IV. — La nucléo-protéide exsudée de l'intestin, sous l'influence de la chaleur, contient 1,5 de phosphore pour 100.

V. — Si on fait macérer à l'étuve un intestin dans une solution faiblement alcaline, en présence de chloroforme, on constate, au bout de quelques heures, la mise en liberté d'une substance anticoagulante se

rapprochant, par sa teneur en phosphore, des nucléines.

VI. — L'acide nucléinique extrait de l'intestin possède le pouvoir d'empêcher *in vitro* la coagulation du sang. L'action de la nucléo-protéide extraite des tissus doit être, vraisemblablement, rapportée au groupe phosphoré spécifique de la nucléo-protéide, à l'acide nucléinique.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

J.-P. MORAT.

Vu :

LE DOYEN,

L. HUGOUNENQ.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 4 décembre 1912.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

JOUBIN.

BIBLIOGRAPHIE

- BOGGS, *Deutsch. Archiv f. klin. Mediz.*, Bd. LXXIX, n° 56.
- CONRADI, *Hofmeisters' Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol.*, Bd.^{II}, 1902.
- DOYON, MOREL et POLICARD, *Société de Biologie*, 1911, p. 463.
- DOYON et POLICARD, *Société de Biologie*, 1^{er} juillet 1911, p. 8;
24 février 1912, p. 307.
- DOYON, *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, XIV,
n° 2, 2 mars 1912.
- Action du chloroforme sur le foie (*Biologie*, 1912, 26,
6 janvier).
 - Isolement de la substance anticoagulante du foie par la
dialyse chloroformique (*Biologie*, 1912, 59, 13 jan-
vier).
 - Entraînement de l'antithrombine hépatique par l'eau salée
additionnée de chloroforme (*Biologie*, 1912, 133, 27 jan-
vier).
 - Action des vapeurs des liquides anesthésiques sur le foie.
Rapprochement avec les effets du sel (*Biologie*, 1912,
306, 24 février).
 - Extraction de l'antithrombine de la rate (avec A. POLICARD)
(*Biologie*, 1912, 307, 24 février).
 - Procédé rapide pour obtenir l'antithrombine (*Biologie*,
1912, 402, 9 mars).
 - Extraction comparée de l'antithrombine des intestins par
la dialyse chloroformique, l'action de la chaleur à l'au-
toclave, la macération (*Biologie*, 1912, 727, 4 mai).

DOYON, Antithrombine des ganglions lymphatiques (*Biologie*, 1912, 766, 11 mai).

— Extraction de l'antithrombine des testicules et de l'intestin (*Biologie*, 1912, 925, 8 juin).

DOYON et P. DUBRULLE, Nouvelles recherches concernant les conditions d'isolement de l'antithrombine d'origine intestinale. Utilisation des préparations des ferments digestifs (*Biologie*, 1912, 285, 27 juillet).

— Formation d'une substance anticoagulante phosphorée sous l'influence de l'autodigestion de l'intestin (*Biologie*, 1912, 546, 30 novembre).

DOYON et F. SARVONAT (avec la collaboration de P. DUBRULLE), Propriétés anticoagulantes de l'acide nucléinique extrait de l'intestin (*Biologie*, 1912, 546, 30 novembre).

HORNEFFER, Thèse de Genève, 1908.

LILIENFELD, *Zeitsch. f. Physiologie-Chemie*, 1895, p. 89.

LOEB, *Virchow's Archiv*, Bd. CLXXVI, Heft 2.

MORAWITZ, *Ergeb. d. Physiologie*, IV, 1905.

MOREL, *Précis de technique chimique*, 1909, p. 182.

NEUMANN, *Physiologische Abteilung des Archives für Anatomie und Physiologie*, Leipzig, 1899, p. 549.

RAUSCHENBACH, Thèse de Dorpat, 1883.

A. SCHMIDT, *Zur Blutlehre*, Leipzig, 1892 et 1895.

WOOLDRIDGE, *Die Gerinnung des Blutes*, Leipzig, 1891.

TABLE DES MATIÈRES

But de l'ouvrage	9
A. — Substances coagulantes des tissus	10
I. Historique	10
II. Propriétés des coagulines tissulaires.	11
III. Préparation des coagulines tissulaires	13
IV. Préparation d'une poudre coagulante	14
V. Travaux de Delezenne	15
VI. Rapport avec le fibrin-ferment	16
B. — Substances anticoagulantes des tissus.	17
Autolyse	17
Histones	17
Antithrombine sécrétée par le foie.	18
Plasma peptoné.	19
Extraction du foie broyé	19
Circulation artificielle à travers le foie	20
Antithrombine des organes autres que le foie	21
Cas particulier	21
Recherches personnelles	22
C. — Action de la chaleur à l'autoclave	23
D. — Dialyse chloroformique	28
Expériences concernant le foie. Mode d'action du chloroforme. Action de l'éther	29
Expérience concernant l'intestin	31
Expérience concernant les ganglions lymphatiques.	33
E. — Entraînement de l'antithrombine par l'eau salée addi- tionnée de chloroforme.	34

E. — Rapprochement avec les effets de l'injection de chloroforme dans la veine porte	35
F. — Autolyse en présence de chloroforme.	38
Conditions expérimentales	38
Résultats antérieurs concernant l'autolyse	42
Résultats obtenus	43
G. — Action de la pepsine et de la trypsine sur la nucléoprotéide active.	49
I. Digestion pepsique	49
II Substance anticoagulante des pancréatines	51
H. — Propriétés anticoagulantes de l'acide nucléinique extrait de l'intestin	53
Conditions expérimentales	53
CONCLUSIONS	55
BIBLIOGRAPHIE.	57

